단백질 분자의 전기영동 이동도 계산

안세혁, 윤병준
포항공과대학교 기계산업공학부 화학공학과

Calculation of Electrophoretic Mobility for Protein Molecules

Se Hyuk Ahn and Byung Jun Yoon
Dept. of Chem. Eng. and Div. Mech. & Ind., POSTECH

서 론

전기영동이란 하전된 입자가 외부에서 가해주는 전기장의 전기적 힘에 의하여 이동하는 현상이다. 단백질과 같은 생체 분자들이 전하를 가지는 이유는 주변 전해질의 pH에 따라 이온화 정도가 다른 아미노기(*-NH*$_2$)와 카르복실기(*-COOH*)의 분자구조로 이루어져 있기 때문이다. 따라서 여러 종류의 분자로 이루어진 혼합물에서 각 분자들은 외부 전기장에 의해 서로 다른 이동도(mobility)를 보이게 되고, 이러한 특성을 이용하면 혼합물의 분리에 효과적일 수 있다. 본 연구에서는 몇 가지 단백질에 대한 전기영동 이동도를 경계 요소법으로 계산하기 위해서, 전기 이중층에 의한 전위 및 외부에서 가해지는 전기장에 의한 전위, 그리고 입자의 움직임에 의한 유체 속도를 계산해 보았다. 단백질의 전기영동 이동도 텐서를 구했던 기존의 연구[1]에서는 입자의 병진 및 회전 운동을 서로 독립적으로 보았으나, 본 연구에서는 Teubner[2]의 이론을 바탕으로 하여 그 상호작용으로 인한 연결텐서(coupling tensor)를 중요인자로 감안하여 전기영동 이동도 텐서를 구하는 구체적 방법을 논의하였다.

이 론

전해질 속에서 전하를 가진 입자는 외부에서 가해지는 전기장에 의해 입자에 가해지는 전기적 힘과 입자의 움직임에 의한 항력을 받게 된다. 이 두 가지 힘의 상호작용에 의해 입자는 병진 및 회전 운동을 하게 되고, 이러한 힘에 가장 영향을 미치는 인자들은 입자의 모양과 전하분포 그리고 전기 이중층의 두께이다. 입자에 가해지는 힘과 토크는 각각 수력학적 영향과 전기적 영향으로 구분되고, 이들의 수지식은 다음과 같다.

$$\mathbf{F}^H + \mathbf{F}^E = 0, \qquad \mathbf{T}^H + \mathbf{T}^E = 0. \tag{1, 2}$$

여기서 *H*와 *E*는 각각 수력학적 영향과 전기적 영향을 표시한다. 수력학적 힘과 토크는 응력 텐서를 사용하여 입자의 표면 적분으로 표현되고, 정전기적 힘과 토크는 Maxwell 응력 텐서를 사용하여 입자의 표면 적분으로 표현된다. 수력학적 영향 및 전기적 영향은 Stokes식에 지배 받으며, 외부 전기장은 Poisson식에 지배 받는다.

$$-\nabla p + \mu\nabla^2\mathbf{u} + \rho\mathbf{E} = 0, \qquad \nabla\cdot\mathbf{u} = 0, \tag{3,4}$$

$$\nabla^2\Psi = -\frac{\rho}{\varepsilon}. \tag{5}$$

여기서 ε은 전해질의 유전 상수이고, ρ는 전하 밀도, μ는 점도이다. 수력학적 힘과 토크는 순수한 수력학적 영향에 의한 $\mathbf{F}_1^{\mathrm{H}}$, $\mathbf{T}_1^{\mathrm{H}}$ 및 전기 이중층 내 이온들의 움직임에 의한 $\mathbf{F}_2^{\mathrm{H}}$, $\mathbf{T}_2^{\mathrm{H}}$로 구성된다. 전자의 경우는 전하를 가지지 않는 입자가 병진속도 $\mathbf{U}$ 및 회전 속도 $\mathbf{\Omega}$로 강체운동을 하는 경우의 Stokes식으로부터 주어진다. 이에 대한 일반해는 잘 알려져 있으며[2], $\mathbf{U}$및 $\mathbf{\Omega}$에 선형적으로 비례한다.

$$\mathbf{F}_1^H = \mathbf{F}_1^H(\mathbf{U}, \mathbf{\Omega}), \qquad \mathbf{T}_1^H = \mathbf{T}_1^H(\mathbf{U}, \mathbf{\Omega}). \tag{6}$$

후자의 $\mathbf{F}_2^{\mathrm{H}}$, $\mathbf{T}_2^{\mathrm{H}}$에 대한 지배 방정식은 전하를 가지는 입자가 외부 유동이 없는 상태에서 움직이지 않을 때 입자 주변에서의 전기삼투 흐름에 대한 것으로써, Lorentz의 역의 정리를 이용하여 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\mathbf{F}_2^H = \int_{V_f} \rho \mathbf{u}^F \cdot \mathbf{E} dV\,, \quad \mathbf{T}_2^H = \int_{V_f} \rho \mathbf{u}^T \cdot \mathbf{E} dV. \tag{7,8}$$

여기에서 V_f는 입자 바깥의 유체 부피를 의미한다. 텐서 $\mathbf{u}^F$와 $\mathbf{u}^T$는 각각 다음과 같은 경계조건을 만족하는 Stokes 속도장이다.

$$u_{ij}^F\big|_S = \delta_{ij}\ ,\ u_{ij}^T\big|_S = \varepsilon_{ikj}(x - x_c)_k. \tag{9,10}$$

여기서 첨자 s는 입자의 표면이며, x_c는 입자의 중심을 나타내는 벡터이다. Maxwell 응력 텐서로 표현된 정전기적 힘과 토크는 다음과 같이 부피 적분으로 표현될 수 있다.

$$\boldsymbol{F}^E = -\int_{V_f} \rho \boldsymbol{E} dV\,, \quad \mathbf{T}^E = -\int_{V_f} (\mathbf{x} - \mathbf{x}_c) \times \rho \mathbf{E} dV. \tag{11,12}$$

식(5)부터 (12)까지를 식(1)과 (2)에 대입하여 총괄 힘 및 토크 수지식을 구하면 다음과 같이 표시할 수 있다.

$$\begin{pmatrix} \mathbf{U} \\ \mathbf{\Omega} \end{pmatrix} = \frac{1}{\mu} \begin{pmatrix} \mathbf{a} & \mathbf{b}^t \\ \mathbf{b} & \mathbf{c} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{G} \\ \mathbf{H} \end{pmatrix} \mathbf{E}^0. \tag{13}$$

여기에서 $\boldsymbol{a}$, $\boldsymbol{b}$, $\boldsymbol{b}^t$ 및 $\boldsymbol{c}$는 수력학적 이동도 텐서이다[3]. 특히 $\boldsymbol{b}$, $\boldsymbol{b}^t$를 연결텐서라 하고, 구와 타원체 같은 대칭형 입자들의 경우에는 $\boldsymbol{b}$=$\boldsymbol{b}^t$=0이 된다. 즉 입자의 병진 운동과 회전 운동이 서로 독립적이다. 하지만 단백질 같은 생체 분자들은 그 모양의 복잡함으로 인하여 연결텐서를 무시할 수 없으며 본 연구에서는 Fredholm의 2종 적분 방정식을 사용하여 $\boldsymbol{b}^t$의 영향을 고려 하였다. 텐서 $\boldsymbol{G}$, $\boldsymbol{H}$는 다음과 같이 입자 외부의 부피적분으로 표현된다.

$$G_{ij} = \varepsilon \int_{V_f} \left(u_{ik}^F - \delta_{ik}\right) \left(\nabla^2 \psi \frac{\partial \phi_j}{\partial x_k}\right) dV\ \ ,\ \ H_{ij} = \varepsilon \int_{V_f} \left[u_{ik}^T - \varepsilon_{ilk}(\mathbf{x} - \mathbf{x}_c)_l\right] \left(\nabla^2 \psi \frac{\partial \phi_j}{\partial x_k}\right) dV. \tag{14,15}$$

여기에서 ψ는 전기 이중층에 의한 전위이고, ϕ_j는 외부 전기장에 의한 전위로써 전체전위는 $\Psi=\psi+\phi_i E_i^0$로 주어진다. 식(13)에 의해서 단백질에 대한 수력학적 이동도텐서 및 식(14,15)의 부피적분을 계산함으로써 전기영동에 의한 입자의 움직임 **U**, **Ω**를 알 수 있다. 전기 이중층의 전위 ψ는 선형화 된 Poisson-Boltzmann식을 만족한다고 가정하였다[4]. 전위 ψ는 단백질 내부의 전하분포와 연관되어 있으며 경계요소법으로 계산하였다. 전위 ϕ_i는 Laplace 식으로부터 주어지며 역시 경계요소법으로 구하였다. 수력학적 이동도 텐서 및 u_{ik}^F와 u_{ik}^T는 Stokes식에 대한 경계적분식으로부터 구하였다[3]. 식(14,15)에 나타나는 부피적분은 사면체의 작은 부피요소를 사용하여 Gauss구적적분으로 수치적으로 계산하여 구할 수 있다.

결과 및 토론

Figure 1은 경계요소법으로 문제를 풀기 위해서 Molecular Surface Package[5]를 사용하여 단백질의 표면을 삼각형 요소로 분할한 그림이다.

Figure 1. Ribonuclease A의 표면 분할.

Table 1은 Figure 1과 같이 표면이 작은 삼각형 요소로 분할된 단백질의 확산계수를 경계요소법으로 계산한 값이다. 이를 위해 Fredholm의 2종 적분식을 사용했다[6].

		Experimental	Predicted
Lysozyme	D^t, $\times 10^6$ $(cm^2 \cdot s^{-1})$	1.11 ± 0.05	1.24
	D^r, $\times 10^{-7} (s^{-1})$	2.6 ± 0.7	2.89

Table 1. Lysozyme의 확산 계수.

여기서 D^t는 병진 확산계수이고, D^r은 회전 확산계수이다. Lysozyme의 표면 삼각형 요소 수는 3138개 이다. 확산계수는 순수한 수력학적 요인들에만 영향을 받으며, Table 1 에서 보는 바와 같이 실험치와 10% 미만의 오차를 보였다. Figure 2는 단위 전하가 원점에 있는 구형입자의 경우에 대하여 해석해와 경계요소법으로 계산한 전위 분포를 비교한 것이고, 매우 정확한 결과를 보이고 있다.

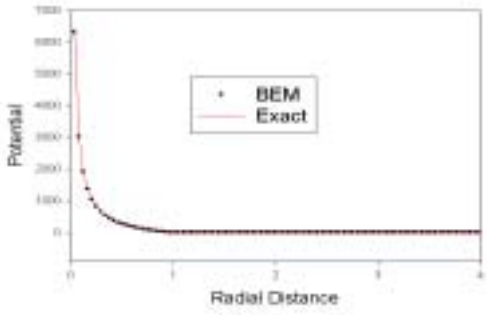

Figure 2. 반지름이 1Å인 구형 분자의 내부 및 외부에서의 전위 분포(단위: *kT/e*).
그 외 변수: κ^{-1}=7.5Å, ε^{i}=2, ε^{e}=80.

여기에서 가로축은 원점으로부터의 거리이고, 세로축은 전위 값이다. Figure 3은 단백질의 내부 및 외부에서의 전위 분포를 경계 요소법으로 계산한 결과이다. 단백질의 표면 삼각형 요소의 수는 3722개이고, pH는 7에서 계산하였다.

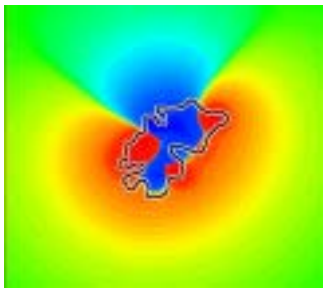

Figure 3. Ribonuclease A의 내부 및 외부에서의 전위 분포.
그 외 변수: κ^{-1}=9.6Å, ε^{i}=2, ε^{e}=80.

Debye 길이인 κ^{-1}(9.6Å)는 298K에서 1:1 전해질 용액의 0.1M 농도에 해당한다. 따라서 스톡스 속도장과 더불어 본 결과에서 보인 각 전위 값들을 사용한 단백질의 전기영동 이동도 텐서값을 구할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(과제 번호:R01-2001-00410)의 연구비 지원과 교육부의 BK21 프로그램의 연구비 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. K. S. Chae, A. M. Lenhoff, *Biophys. J.* 68(1995) 1120.
2. M. Teubner, *J. Chem. Phys.* 76(1982) 5564.
3. S. Kim, S. Karrila, Microhydrodynamics, Butterworth-Heinemann, Boston (1991) chapter 5.
4. B. J. Yoon, A. M. Lenhoff, *J. Comp. Chem.* 11(1990) 1080.
5. M. L. Connolly, *J. Appl. Cryst.* 18(1985), 499.
6. D. Brune, S. Kim, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90(1993) 3835